

Title	PMES-2 : a cytoskeleton-associated protein encoded by a novel synaptosomal mRNA
Author(s)	二宮, 賢介
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46476
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	二宮賢介
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 19732 号
学位授与年月日	平成 17 年 6 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	PMES-2 : a cytoskeleton-associated protein encoded by a novel synaptosomal mRNA. (新規シナプトソーム mRNA がコードする細胞骨格関連蛋白質 PMES-2 についての研究)
論文審査委員	(主査) 教授 小倉 明彦 (副査) 教授 吉川 和明 教授 岡田 雅人 招聘教授 田口 隆久

論文内容の要旨

神経細胞は複雑に枝分かれした樹状構造を形態学的な特徴としており、その至る所で他の神経細胞とシナプス結合を形成している。個々のシナプス結合の構造的・機能的変化(シナプス可塑性)が、神経回路網再編の基礎過程であると信じられている。

本研究では、シナプス可塑性を理解するうえで重要な仮説と考えられる

「特定の mRNA が樹状突起中に輸送され、シナプスにおいて局所的に翻訳される。」

「局所的に合成された翻訳産物が、シナプス部位毎の個別の可塑的变化を担う。」

というモデルに注目し、その実態にせまろうとした。

最初に、どの遺伝子の mRNA が樹状突起に輸送されているのかを調べるため、シナプトソーム分画(シナプス部位を豊富に含む分画)に豊富に含まれる mRNA を網羅的に探索した。得られたクローンの一つである機能未知の新規遺伝子を *Pmes-2* (protein whose mRNA is enriched in synaptosomes-2) と名付けた。

海馬神経細胞の神経突起中に *Pmes-2* mRNA が含まれることから、この遺伝子が当初目的とする遺伝子の一つであると判断した。本研究では、*Pmes-2* 遺伝子産物の発現プロファイル、細胞内局在、分子間相互作用、及び、樹状突起の糸状仮足(filopodia)と棘突起(spine)の形態への影響を解析し、シナプスにおける役割について考察した。

PMES-2 蛋白質の神経細胞内局在を調べた結果、filopodia と spine に局在することが明らかになった。

Pmes-2 遺伝子産物の結合蛋白を yeast 2-hybrid 法やプルダウン法を用いて解析した結果、effector domain (ED) を介してアクチンと結合すること、C 末端を介して dynein light chain (DLC) と結合することが明らかになった。また、ED を介したアクチンとの結合は、 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ によって阻害されることが *in vitro* の実験で示された。

転写産物の脳における総量は発生依存的に増加していくが、アクチン結合ドメインを欠いたアイソフォーム PMES-2ΔED は発生初期に限定的な発現を示した。

以上の結果より、PMES-2 と PMES-2ΔED の比較によって、PMES-2 のシナプスにおける役割を解明出来ると考えた。神経細胞に両者を過剰発現させ、細胞の形態を観察した結果、PMES-2ΔED 発現細胞が filopodia、spine の

密度と長さを増大させたのに対し、PMES-2 発現細胞では顕著な変化はみられなかった。

以上の結果は、PMES-2 が、発生依存的、そして恐らくは活動依存的に、シナプス形態を制御する細胞骨格関連蛋白質である可能性を示唆している。今後、*Pmes-2* mRNA のシナプスへの輸送機構や翻訳制御機構、シナプスの形態を変化させるメカニズムを明らかにすることで、シナプス入力から蛋白合成、シナプスの形態変化に至る一連の現象の解明に繋がることが期待できる。

論文審査の結果の要旨

神経細胞における蛋白質の合成に関しては、その機能が必要とされるときに染色体 DNA から mRNA に転写され、蛋白質に翻訳されて機能すべき部位に輸送されるという典型的な制御様式とは別に、あらかじめ mRNA の形で機能部位近傍に輸送されて「待機」しており、機能が必要になったときに局所的に翻訳が始まるという制御様式のあることが、最近提唱されている。

二宮君は、こうした蛋白質の局所翻訳の問題に取り組む、シナプス後部に輸送され、未翻訳状態で存在している mRNA を同定して、新規の蛋白質をコードしているものを発見した。*Pmes-2* と名づけたこの蛋白質は、複数の splicing variants をもち、脳発達の段階中でシナプス形成期には actin 結合領域 (ED) を欠く型 (*Pmes-2* Δ ED) が発現し、成熟後には ED を含む型 (*Pmes-2*) に置き換わる。さらに、*Pmes-2* は、シナプス活動に伴う Ca/calmodulin 信号によってリン酸化され、actin と解離する。*Pmes-2* Δ ED の発現も *Pmes-2* のリン酸化も、ともに細胞骨格の制御に関係すると推測されたので、培養海馬神経細胞に *Pmes-2* Δ ED を強制発現させたところ、樹状突起から多数の微小突起 (filopodia/spine) が伸出した。

これらの知見から、脳発達時には *Pmes-2* Δ ED が発現してシナプス形成を促進する一方、成熟後は *Pmes-2* に置換されてシナプス新生を抑制しており、シナプス活動があると *Pmes-2* のリン酸化によってその抑制が解かれる、という図式が描ける。さらに *Pmes-2* はその C 末端で dynein 軽鎖と結合していることも見出した。すなわち *Pmes-2* は、不活動時にはアクチンと微小管とを架橋するように存在し、活動時にその架橋性を失うことで微小突起内でのアクチンの動態を制御しているという可能性が示唆される。

以上の研究は、シナプス可塑性の発現機構上重要な知見であり、博士 (理学) 論文として十分価値あるものと認められる。